

RESPIRATORY METABOLISM AND POTASSIUM DEFIOIENCY IN HIGHER PLANT(**カリウム欠乏植物に おける呼吸代謝に関する研究**)

著者	山下 忠明
号	45
発行年	1967
URL	http://hdl.handle.net/10097/12426

氏 名 (本籍) やま した ただ あき
山 下 忠 明 (大阪府)

学 位 の 種 類 農 学 博 士

学 位 記 番 号 農 博 第 4 5 号

学位授与年月日 昭和 4 3 年 3 月 2 6 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院農学研究科
(博士課程) 農芸化学専攻

学 位 論 文 題 目 RESPIRATORY METABOLISM
AND POTASSIUM DEFIOIENCY
IN HIGHER PLANT
(カリウム欠乏植物における呼吸代謝
に関する研究)

(主 査)
論文審査委員 教授 藤 原 彰 夫 教 授 志 村 憲 助

助教授 尾 田 義 治

論文内容要旨

諸 論

植物の全生育過程にわたってカリウムの供給が必要であることは古くから知られている。植物体中でKを含む有機化合物の存在は知られていず、またその生理的役割についても不明の点が多い。K⁺が種々の酵素反応をactivateすることはよく知られているが、これから直ちに植物体内でのKのもつ生理的役割を論ずることは困難である。このようなKの果す生理的役割を追求する方法として植物をK欠乏状態におくことによってもたらされる代謝の変動を知るということが古くから行われている。一般に植物をK欠乏にすると還元糖および遊離アミノ酸、アミドの蓄積、または蛋白質-N，デンプンの減少が認められている。しかし一方においてはいずれの栄養素を欠乏させても、このような現象が認められるという批判もある。このような点を考慮して要素欠乏によりもたらされる最初の代謝変動をとらえ動的にまたこれにできるだけ密接して追求していくことにより、上に挙げたような批判に応えることができるものと考えられる。

植物が軽い程度のK欠乏状態になると呼吸は正常植物のそれに比べ高くなることは多くの植物で知られている。またこのような呼吸の高まりはKを与えることにより容易にもとにもどることも一般に認められている。従ってこの呼吸の高まりをK欠乏によりもたらされる一次的な代謝の乱れと考え、この呼吸のもつ内容を上に述べたような立場から追求した。

I 章

水稻幼植物を材料としK欠乏初期にみられる呼吸の高まりと植物組織中の呼吸基質の関係をすることを目的として実験を行った。水稻幼植物をKレベルを異にする培地に水耕栽培し呼吸（酸素吸収）有機酸、及びアミノ酸含量の変動を調べてみた。K低レベルの葉の呼吸は一時期高くなり、またこれら葉中での有機酸では酢酸、コハク酸の減少がみられた、アミノ酸ではグルタミンの蓄積が著るしかった。更に長い期間にわたってのKの供給不足は呼吸の低下をもたらし、先にみられた酢酸の減少は認められず、またコハク酸については逆にその増加が認められた。一方アミノ酸ではすべてのアミノ酸が増加していたがグルタミン、アスパラギンの蓄積が顕であった。葉中の窒素含量はKの供給によっては影響をうけないが、磷、カルシウム、ナトリウムはK低レベルの葉中で含量が増加していた。このように培地中のKレベルによって酸素吸収、有機酸、アミノ酸含量等は変化をうけるが、この中で特に注目されるのは酢酸の動きである。植物中では酢酸は通常の代謝中間物質とは考えられていなかったし、また葉中にこの酸が蓄積されるという例も少ない。しかし最近トウモロコシの根で酢酸がTCA回路を通じて代謝されることが明らかにされた。従って水稻葉でみられたK欠乏による呼吸の高まりの見られる時期での酢酸の減少は酢酸の代謝のされ方がKのレベルによって変動をうけるのかも知れないことを示している。

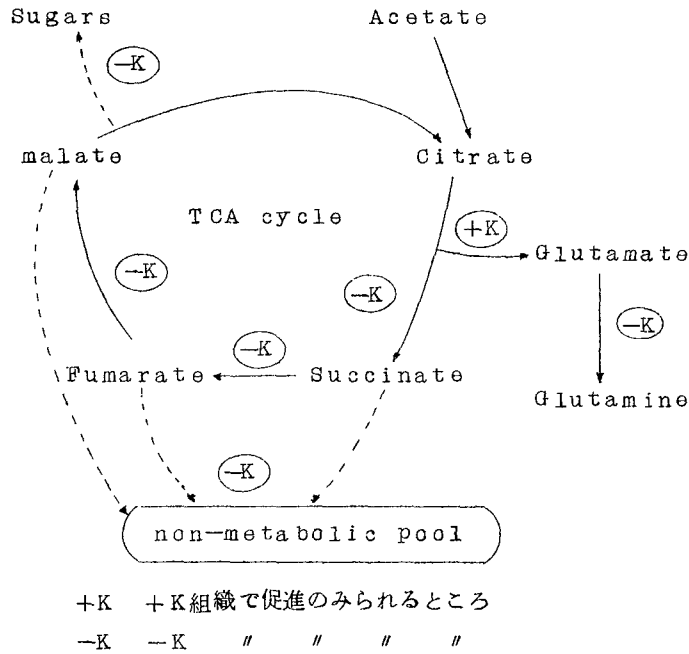
II 章

前章に於いて培地中のKレベルによって酢酸の含量に変化のあることを示したが、水稻幼植物葉での酢酸の代謝を知るため、葉に酢酸-1- ^{14}C を与え ^{14}C の有機酸及びアミノ酸への取込みを経時的に追跡してみた。有機酸区分ではクエン酸、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸に ^{14}C が取込まれ、またアミノ酸区分ではアスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミンに ^{14}C が取込まれており、最も多くの ^{14}C を取り込んだものはクエン酸であり、アミノ酸の中ではグルタミン酸であった。このような結果から水稻葉に於いても酢酸は主としてTCA回路を通じて代謝されることが推定できる。また、それぞれの有機酸のspecific activityを比較してみるとクエン酸よりもリンゴ酸で高くなることもあり、酢酸のTCA回路への入口としてはcondensing enzymeの外にmalate synthetaseによることも想定される。

III 章

K欠による呼吸の高まりの見られる時期の葉中での酢酸含量の低下から、また前章で示したように酢酸が水稻葉中では主としてTCA回路を通じて代謝されるということからK欠水稻葉での酢酸-1- ^{14}C の代謝を正常葉のそれと比較した。

水稻幼植物葉にその切口から酢酸-1- ^{14}C を与え、アミノ酸区分、有機酸区分及び糖区分への ^{14}C の取込みを経時的に追ったところ、K欠葉(-K)の有機酸及び糖区分への取込みは正常葉(+K)のそれらよりも大であったがアミノ酸区分への取込みは+K葉の方で大きかった。有機酸の中ではリンゴ酸、コハク酸、フマル酸、での ^{14}C は-K葉の方が大きく、クエン酸のみは+K葉で大であった。またアミノ酸ではグルタミン酸への ^{14}C 取込みは+K葉の方で著るしく大きいにもかかわらず、グルタミンへの取込みは-Kで大であり、+K葉のグルタミン酸の ^{14}C は-K葉のグルタミン酸+グルタミンの ^{14}C の含量よりもはるかに大であった。以上の結果をまとめてみると図のようになる。即ち+K葉ではTCA回路上の有機酸はグルタミン酸へトラップされる割合が大きいのに比べ、-K葉では与えられた酢酸-1- ^{14}C はTCA回路を通じて完全に酸化される比率の大きいことを示している。従って-K葉での呼吸の高まりもTCA回路による基質の酸化が盛んであるということから説明できる。



V 章

前章までにK欠乏による呼吸の高まりは、+K組織に較べ-K組織ではTCA回路を通る比率の大きいことによることを推論したが、このことを更に確にすることを意図してTCA回路の阻害剤 (Succinic dehydrogenaseを阻害) であるマロン酸を酢酸-1- ^{14}C と同時に与えコハク酸及びその他の有機酸への ^{14}C のとり込みに及ぼすマロン酸の効果を+K葉と-K葉で比較してみた。その結果マロン酸により蓄積される ^{14}C -コハク酸は-K葉では+K葉の2倍に達する。また酢酸-1- ^{14}C からの $^{14}\text{CO}_2$ の排出をみると+K葉よりも-K葉で大きい。これら二つのことから-K葉では+K葉に較べTCA回路の回転の速いことが結論される、同時に酸素呼吸の増大も説明され得る。

近年高等植物組織でもグリオキシル酸回路の存在が証明されており、Kレベルによる代謝変動にもこの回路が関与しているのではないかと考えられる。即ち+K葉ではTCA回路のバイパスであるグリオキシル酸回路を-K葉におけるよりも多く通ると考えることは-K葉での呼吸が+K葉よりも高いことを説明するのに好都合である。このようなことから、グリオキシル酸回路のkey enzymeであるmalate synthetaseの活性を知るため酢酸-1- ^{14}C と同時にグリオキシル酸を葉に与え ^{14}C の有機酸へのとり込みをみた。その結果は+K、-K葉のいずれに於いてもリ

ンゴ酸に多くの ^{14}C が取込まれるということは見られなかった。また葉の抽出物について malate synthetase の活性をみたところやはり +K, -K 葉のいずれでもその活性は認められなかった。従ってグリオキシル酸回路が関与する代謝変動は否定されねばならない。また酢酸の TCA 回路へのもう一つの入口である condensing enzyme を較べてみると -K 葉で活性が高かった。呼吸速度を律速しているものに酸化的磷酸化の過程があるがこれを uncoupler である 2, 4-ジニトロフェノール (DNP) によって除くことにより組織のもつ呼吸の full capacity を知ることが出来る。そこで DNP を与えたときの酢酸- ^{14}C からの $^{14}\text{CO}_2$ の排出を較べてみると -K 葉では +K 葉より少いという結果が得られた。即ち -K 葉の現実の呼吸は高いがその full capacity は +K 葉よりも低いということが結論される。呼吸が細胞内の ADP レベル或いは ATP/ADP 比により調節されることはよく知られている。そこで高い呼吸速度を示す -K 葉での ADP レベル又、ATP/ADP 比を知るために冷酸可溶のヌクレオチドについてイオン交換クロマトグラフィーにより分析を行った。AMP, CMP, GMP, UMP また ADP, UDP, CDP などの mono-或いは, di-phosphate 又クレオチドは K 欠乏によって影響をうけないが, ATP, GTP, CTP などの triphosphate 又クレオチドは -K 葉で著しく減少していた。従って -K 葉では ATP/ADP 比が低くなっていることが明らかである。

V 章

+K 葉に較べ -K 葉の呼吸 ($^{14}\text{CO}_2$ 排出及び酸素吸収) の DNP に対するレスポンスの小さいこと及び ATP レベルの低いことから K 欠組織ではミトコンドリアの phosphorylation system が "loose" に共軛しているのではないかと考えられる。このことを明らかにするためコムギ幼植物を K 欠乏培地で 3 日間生育させその根から得られたミトコンドリアについて +K 植物の根から得たものとその性質を比較してみた。Succinic-Cyt. C reductase, NADH-Cyt. C reductase, Cyt. Oxidase 活性については差がみられず、また酸素吸収についても明らかな差を見出すことはできなかった。phosphorylation system で共軛の程度を知るために ADP の存在するときの呼吸 (state 3 呼吸) と ADP のないときの呼吸 (state 4 呼吸) の比 (Respiratory control ratio) をとってみると -K 組織から得られたミトコンドリアが尚 +K 組織から得られたものと同じ程度の Respiratory Control ratio をもつことが明らかであり、また ADP/0 比についても差のないことを示した。これらの結果から K 欠乏によってミトコンドリアの性質に重大な変化がもたらされるとは考えられない。

結 論

K 欠乏初期に一時的にみられる呼吸の高まりは TCA 回路上の有機酸がグルタミン酸等へトラップされる割合が少くこの回路を通じて完全に酸化される比率の大きいことによるものである。また TCA 回路の回転の速さは oxidative phosphorylation system によって律速されており、この rate limiting step を除いたときにみられる呼吸能はカリ欠組織の方が低い。また組織中での ATP/ADP 比は K 欠組織で低く、このことが TCA 回路の回転を速め酸素吸収の増大をもたらすものである。単離ミトコンドリアがインタクトの組織の示す種々の反応を充分に反映することは困難であるがその性質がカリウム栄養により大きな変化をうけるということはなく、K 欠組織から得られたミトコンドリアが、なお呼吸調節能をもち、+K 組織から得られたものに較べその低下は見られなかった。

審 査 結 果 の 要 旨

植物の全生育過程に亘ってカリウムの供給が必要であることは古くから知られているが、カリウムのもつ生理的役割はいまだに不明である。提出者は高等植物が軽いカリウム欠乏状態において、正常のそれに比べて呼吸が高まることに着目して、研究を行った。

すなわちカリウム欠乏の葉中では酢酸、コハク酸、特に酢酸の減少がみられ、アミノ酸ではグルタミンの蓄積が著しかった。

さらに長期に亘りカリウムを欠乏せしめると酢酸の減少がみとめられなくなったがこれらは酢酸の代謝がカリウムのレベルによって変動をうけることを認めた新知見である。それで酢酸-1-¹⁴Cを与えて、酢酸もTCA回路を通じて代謝されることを認め、またカリウム欠乏葉では酢酸がTCA回路を通じて完全に酸化される比率が大きく、完全葉ではグルタミン酸へトラップされる割合の多いことを知った。従ってカリウム欠乏葉での呼吸の高まりもTCA回路による基質の酸化が盛んであるということから説明しようとした。さらにTCA回路の阻害剤を与えた実験及びカリウム欠乏葉と正常葉を比較して、ADPレベル、ATP/ADP比等を詳細に検討した結果上記の事実が証明された。

これを要するにTCA回路の回転の速さはoxydative phosphorylation systemによって律速されており、このrate limiting stepを除いたときにみられる呼吸能はカリウム欠乏組織の方が低い。

また組織中でのATP/ADP比はカリウム欠乏に際して低くなり、このことがTCA回路の回転を速め酸素吸収の増大をもたらすものであるとした。単離ミトコンドリアがintactの植物組織と全く同様には考えられないが、その性質がカリウムのレベルによって大きい変化を受けるということはなく、カリウム欠乏組織より得られたミトコンドリアが、なお呼吸調節能をもちカリウムを充分に供給された組織より得られたものに比べて呼吸調節能の低下はみられなかった。

本論文はかくのごとく数多の新知見を含み、高等植物におけるカリウムの生理作用について新しい見解を確立したものであって、提出者は農学博士の学位を授与される価値ありと認められた次第である。